Münster 1936 No 370 Med DiSS

Aus dem Hygienischen Institut der Westfälischen Wilhelms-Universität, Münster/Westfalen.
Direktor: Prof. Dr. K. W. Jötten.

Vergleichende Untersuchungen über neuere makroskopische Diphterienährböden

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der zahnärztlichen Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Westfälischen Wilhelms-Universität, Münster/Westfalen

Vorgelegt von
Hildegard Wienken
Zahnärztin
aus Gelsenkirchen.

Buch- und Kunstdruckerei Wilh. Postberg, Bottrop i. W.
1936

Dekan: Prof. Dr. K. W. Jötten.

Referent: Prof. Dr. Friedr. Sartorius.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität, Münster i. W.

Meinen lieben Eltern!

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547221_0171

Seitdem es gegen Ende des vorigen Jahrhunderts zunächst gelungen war, an sich Bakterien auf festen künstlichen Nährböden zu züchten, versuchte man in der Folgezeit immer wieder, nunmehr für die einzelnen Bakterienarten Spezialnährböden herzustellen, um die Züchtung von Reinkulturen und damit die Diagnose zu erleichtern. Zum bakteriologischen Nachweis von Diphtheriebazillen hatte man schon seit ihrer Entdeckung ein sehr brauchbares Nährgemisch in dem von Löffler angegebenen Serumnährboden gefunden. Dieser setzt sich zusammen aus 2 Teilen Pferde-, Rinder- oder Hammelserum und 1 Teil neutraler Fleischbrühe, die 1% Traubenzucker und 1% Pepton enthält. In schrägen Röhrchen wird dieses Gemisch bei einer Temperatur bis 100° C allmählich zur Erstarrung gebracht. Die Diphtheriebazillen wachsen auf diesem Nährboden leicht und üppig und auch in den ersten 24 Stunden besser als die stets vorhandenen saprophytischen Kokken. Zudem behalten die Bazillen die typische Form und Lagerung, wie Löffler sie zuerst in den Membranen Diphtheriekranker gesehen und beschrieben hat.

Lange Zeit brauchte man zur Züchtung der Diphtheriebazillen ausschließlich diesen Nährboden. Dann aber, etwa seit der Jahrhundertwende, wurde immer wieder versucht, einen Nährboden herzustellen, der dem „Löffler" überlegen ist. Dabei kann man zwei Richtungen erkennen.

Die eine bemühte sich, dem Diphtheriebazillus bessere Lebensbedingungen zu schaffen und dadurch die positive Ausbeute zu erhöhen, ohne das Wachstum der Begleitflora wesentlich zu berücksichtigen. Allgemein kann man von diesen Nährböden sagen, daß keiner den „Löffler" erreichte, viel weniger aber übertraf. Zu dieser Gruppe gehören die Eiernährböden nach Lubenau, Jundell, Sakharoff, Nastiukow.

Wang und van Riemsdyk verzichteten im Gegensatz zu allen anderen bei der Diphtheriediagnose ganz auf die Nährbodenplatte. Sie verwendeten den Abstrichtupfer direkt für die Kultur.

Wang tauchte die Tupfer in Reagenzgläser mit Rinderblut, die zuvor an 3 aufeinanderfolgenden Tagen je 3 Stunden lang im Wasserbad auf 56° C erwärmt wurden, was eine Dickflüssigkeit des Blutes zur Folge hatte. Zurukzoglu prüfte dieses Verfahren

an 144 Abstrichen. Davon waren auf dem Löffler-Nährboden 48 positiv, während die Wangsche Methode nur 43 positive Fälle ergab.

Van Riemsdyk brachte zur Anreicherung der Diphtheriebazillen den Tupfer in halberstarrtes Serum.

Auch die in den letzten Jahren gemachten Versuche, das Wachstum der Diphtheriebazillen durch Beigabe von überlebendem Gewebe, wie Leber, Milz, Niere und Herzmuskel zu fördern, schlugen fehl. Herzmuskel und Milz steigerten keineswegs das Wachstum, wohl Leber und Nierenzusatz. Aber gleichzeitig änderte sich das Aussehen der Diphtheriestäbchen im mikroskopischen Bild weitgehend; die Keulenform verschwand, auch die Länge der Stäbchen nahm stark ab. Im Tuscheausstrich war eine Aehnlichkeit mit dem Hofmannschen Bazillus festzustellen. Wenn also hier tatsächlich mehr positive Fälle erfaßt wurden als durch „Löffler", so stand dem doch die diagnostische Unsicherheit des mikroskopischen Bildes gegenüber. Weitere Versuche zur Verbesserung des Nährbodens für Diphtheriebazillen gingen in letzter Zeit von Lorentz aus. Er versuchte zunächst mit Sojabohnenmehl als Ausgangsmaterial einen brauchbaren Nährboden zu schaffen. Da sich dieses Material aber wegen gewisser Ungleichmäßigkeit nicht bewährte, ging er dazu über, verdaute Trockenmilch als Ernährungsgrundlage zu nehmen. Weitere Aufbau- und Nährstoffe fügte er in Form von Pepton, Fleischextrakt, Glyzerin, Zystin, Dinatriumphosphat und Kochsalz hinzu.

Alle diese Nährböden, die nur ein reichlicheres Wachstum der Diphtheriebazillen anstreben, treten mit Ausnahme des Löfflerserumnährbodens an Bedeutung hinter der zweiten Richtung zurück, die durch besondere Zugaben zum Nährboden eine elektive Anreicherung und Aussonderung der Diphtheriebazillen erzielen will. Zwischen beiden stehen die Blutnährböden von Mandelbaum und Heinemann zur Trennung der Diphtheriebazillen von ähnlichen Keimen. Schon makroskopisch konnten Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen unterschieden werden, da die ersteren weiße Kolonien mit braungelbem Hof bildeten, die letzteren aber in roten Kolonien mit braunrotem Hof wuchsen. Jedoch konnte sich dieser mit Menschenblut bestrichene Glycerinagar nicht durchsetzen. Immerhin war dies aber der erste Versuch zur makroskopischen Diphtheriediagnose.

Auch bei den Elektivnährböden kann man wieder 2 Gruppen unterscheiden. Zur ersten gehören die Nährböden, die noch durchaus auf das mikroskopische Bild angewiesen sind.

So brachten von Drigalski und Bierast (1913) eine Modifikation des Löfflerserumnährbodens heraus. Durch Gallezu-

satz sollte die Anreicherung der Diphtheriebazillen anderen Bakterien gegenüber erhöht werden. Schmitz, der dieses Nährsubstrat überprüfte, hatte gute Erfolge damit. Dagegen konnten Schulz, Gildemeister und Günther, Büsing, Voelkel und Grundmann diese Angaben nicht bestätigen.

Hatte man sich bisher damit zufrieden gegeben, einen Nährboden herzustellen, der ein möglichst üppiges Wachstum der Diphtheriebazillen gewährleistete, so brachten Conradi und Troch etwas wesentlich Neues in die bakteriologische Diphtheriediagnostik hinein. Sie gingen von der Beobachtung aus, daß sich Diphtheriekolonien auf tellurhaltigen Nährboden schwarz färben, wodurch die Erkennung der Bazillen erleichtert wird. Diese Schwarzfärbung ist auf Reduktion der Tellurverbindung durch Diphtheriebazillen zurückzuführen.

Wenn sich auch diese erste Tellurplatte noch nicht durchsetzen konnte, teils wegen der umständlichen Herstellung und der ungleichmäßigen Reaktion, teils auch, weil eine ausgiebige Nachprüfung nicht befriedigen konnte, so haben doch Conradi und Troch das Verdienst, auf die Wichtigkeit des Tellurs aufmerksam gemacht zu haben, machen doch auch die meisten neueren Nährböden Gebrauch davon.

Conradi versuchte diese Tellurplattenmethode zu verbessern durch die Methode der elektiven Ausschüttelung. Nach dieser sollten die Abstrich-Wattetupfer zunächst bei 37° C in Kochsalzlösung geschüttelt werden. Nach Zusatz von Pentan wurden die Röhrchen dann nochmals geschüttelt, wobei sich die Diphtheriebazillen in dem Pentan sammeln sollten. Mit ölgetränkter Watte wurden sie dann elektiv herausgefischt und auf den Nährboden gebracht.

Berlin gibt an, daß auf diese Weise die positiven Resultate um 10% stiegen. Andere dagegen hatten nicht so gute Ergebnisse damit.

Außer von den Genannten wurde dann auch von Pergola (Italien) noch ein ähnlicher Tellurnährboden für die Elektivzüchtung der Diphtheriebazillen angegeben. Dieser sollte sowohl als flüssiger Nährboden zur Anreicherung der Diphtheriebazillen, als auch nach Koagulation des Eiweiß als fester Nährboden für die Diagnose verwendet werden. Nach den Angaben wachsen Diphtheriebazillen darauf nach 12—15 Stunden bei 37° C in erhabenen, feuchten, hell- bis dunkelgrauen Kolonien. Kokkenkolonien sind ganz schwarz. Wie berichtet wird, sollen mit diesem Nährboden gute Resultate erzielt worden sein.

Schließlich wäre hier noch der tellurhaltige Nährboden von Douglas (England) zu nennen, der zu der gleichen Zeit wie der

von Pergola angegebene herauskam. Dieser ist insofern hochbedeutsam, als er aus einer höheren positiven Ausbeute durch starke Unterdrückung der Begleitflora die Möglichkeit der makroskopischen Feststellung negativer Fälle auf der Platte gestatten soll. Zur zweiten Gruppe der Elektivnährböden gehören diejenigen, welche eine gänzlich makroskopische Plattendiagnose ermöglichen sollen. Diese letzten gewinnen dadurch heute sehr an Bedeutung, daß die Untersuchungsämter durch die Kontroll- und Umgebungsuntersuchungen, die in großem Maße bei Kinderverschickungen durchgeführt werden, vielfach überlastet würden, wenn man jeden Abstrich — und es sind oft mehrere Hundert bis Tausend an einem Tage — mikroskopisch untersuchen müßte. Daher wurde die Forderung nach einem Nährboden laut, der in der Erfassung der positiven Fälle mindestens dem „Löffler" gleichwertig sein sollte, der aber auch zudem noch eine makroskopische Diagnose gestattete. Hier setzen die Versuche Claubergs ein. Auf Grund der Arbeiten von Plaut, Braun, Cahn-Bronner, Leichtentritt und Zielaskowski über den Verwendungsstoffwechsel der Diphtheriebazillen stellte er Nährbodenkombinationen zusammen, die schließlich nach mannigfachen Versuchen zunächst die Blut-Vitamin-Aszites-Tellursalz-Nährplatte (Clauberg I) ergaben. Diese sollte besonders elektiv für Diphtheriebazillen sein und wegen der starken Hemmung der Begleitflora und vor allen Dingen wegen der typischen Koloniebildung eine makroskopische Diagnose der positiven Fälle durch das binokulare Plattenkulturmikroskop ermöglichen. Ein mikroskopisches Bild war nur in zweifelhaften Fällen nötig. Die Polkörnerfärbung war allerdings bei Wachstum der Diphtheriebazillen auf dieser Platte oft nicht so deutlich wie bei „Löffler", auch waren die Stäbchen etwas kürzer und plumper, aber immerhin sollte das typische Bild erhalten bleiben.

Trotz gewisser Vorzüge dieses Nährbodens gegenüber früher bestand jedoch auf die Dauer ein großer Nachteil in der Ungleichwertigkeit der Aszitesflüssigkeit, die meist nur in begrenzter Menge und nicht überall zur Verfügung steht. Deshalb suchte Clauberg einen Ersatz für Aszites zu finden und die Herstellung des Nährbodens zu vereinfachen. So entstand der Blutwasser-Glycerolat-Tellurnährboden (Clauberg II). Auf diesem wuchsen nach Claubergs Angaben nach 6—8 Stunden Bebrütungszeit nur echte Diphtheriestämme. Aber auch nach 24 Stunden soll es noch leicht sein, echte und Pseudodiphtherie von einander zu trennen. Bei längerer Bebrütungszeit dagegen verwischt sich nach den Angaben der Unterschied dadurch, daß die echten Diphtheriebazillen Kolonien bilden, die von den Pseudodiphtheriekolonien nicht mehr

zu unterscheiden sind. Außer Diphtherie und Pseudodiphtherie sollen auf diesem Nährboden nur noch gewisse Kokken wachsen, deren Kolonien dunkel bis tiefschwarz sind und häufig Brombeer- oder Schlackenform annehmen. Eine Nachprüfung dieses Nährbodens im R.K.J. durch Waldhecker ergab im Vergleich zu „Löffler" allerdings zunächst keine Ueberlegenheit. Andere Untersucher hatten dagegen bessere Erfolge, so z. B. Schmitt (Hannover), Himmelweit, Tempé, Manzini, Siestrop, Tallo, Gratsch, Lentze, Piasecka-Zeyland, Mucha.

Als Mängel des Nährbodens wurde von verschiedenen Seiten allerdings geltend gemacht

1. seine umständliche Herstellung,
2. die begrenzte Haltbarkeit und
3. die Unsicherheit der makroskopischen Diagnose, die umsomehr ins Gewicht fällt, als auch das mikroskopische Präparat oft wenig charakteristisch ist.

Die zu Tage getretenen Mängel veranlaßten Clauberg zu einer erneuten Verbesserung seines Nährbodens in Form des Clauberg III in der Richtung, daß einmal die Traubenzuckerspaltung durch die Diphtheriebazillen zu Hilfe genommen, andererseits die Ernährungsbedingungen des Diphtheriebazillus durch Zugabe des schwefelhaltigen Cystins wesentlich verbessert wurden. Die Bedeutung dieses Stoffes für das Wachstum der Diphtheriebazillen ist erst in neuerer Zeit erkannt worden. Die ersten, die diesen Zusatz in Anwendung brachten, waren die Japaner Hosoya und Kuroya (1923). Braun und Hofmeier, die sich mit den Nahrungsbedürfnissen der Diphtheriebazillen beschäftigen, stellten fest, daß Cystin die Schnelligkeit und Ueppigkeit des Wachstums verbessert und für die Züchtung der Diphtheriebazillen in synthetischen Nährböden unbedingt lebensnotwendig ist; und zwar hat das Cystin eine große Bedeutung bei den Oxydations- und Reduktionsprozessen der tierischen und pflanzlichen Zelle. Cystin konnte nach ihren Beobachtungen auch durch Cystein ersetzt werden. Das Cystin spielt auf Grund dieser Beobachtungen in allen neuen Diphtherienährböden eine nicht mehr wegzudenkende Rolle; so in dem schon erwähnten Lorentz-Nährboden und in dem noch zu besprechenden Nährboden von Tietz. Dieser wies später darauf hin, daß auch andere organische Schwefelverbindungen wie Thiomilchsäure, Thioglykolsäure. Thioessigsäure und ihre Natriumsalze Anwendung finden könnten. Durch die Cystinzugabe verlieren die Diphtheriestäbchen meist ihre lange schlanke Form, sie werden kürzer und sind nicht mehr so polymorph. Dagegen ändern sie sich in der Färbbarkeit nicht.

Auch über diesen letzten angegebenen Nährboden Claubergs liegen schon einige Berichte aus der Praxis vor. So stellten Pesch und Dahr einmal an 1000 und späterhin noch an weiteren 1500 Abstrichen einen Vergleich zwischen der Löfflerplatte und „Clauberg III“ an.

Von 1000 Abstrichen waren positiv auf

„Löffler“ 172,
„Clauberg III“ 231.

Davon waren in 149 Fällen „Löffler“ und „Clauberg III“ übereinstimmend positiv. In 23 Fällen war „Clauberg III“ negativ und „Löffler“ positiv und in 82 Fällen war es umgekehrt, also „Löffler“ negativ und „Clauberg III“ positiv. Bei der 2. Untersuchung waren von 1500 Abstrichen

auf „Löffler“ 215
auf „Clauberg III“ 309

Abstriche positiv.

In 189 Fällen waren beide Nährböden positiv.

26 positive Fälle brachte nur der „Löffler“, 120 dagegen nur der „Clauberg“ zur Anzeige. Diese hohe positive Anzahl auf „Clauberg III“ wurde durch eine 48stündige Bebrütung erzielt. Von den 309 positiven Abstrichen waren nur 164 nach 24 Stunden nachzuweisen. Dagegen wurden die Ergebnisse auf „Löffler“ schon nach 18—24stündiger Bebrütung erzielt.

Wohlfeil und Berg kamen bei einem Vergleich zwischen „Clauberg III“ und „Löffler“ zu folgendem Ergebnis:

In 73% der Fälle war eine Uebereinstimmung der Resultate auf beiden Nährböden von insgesamt 2000 Abstrichen. Bemerkenswert ist an dieser Untersuchung, daß in 95 Fällen mit posit. „Clauberg“ und negat. „Löffler“, sich nach Ueberimpfung auf „Löffler“ nur 41 als positiv erwiesen. Die anderen positiven Fälle ergaben Staphylokokken und gramfeste Bazillen der Mesentericusgruppe. Wenn man beide Nährböden für sich betrachtet, ist die positive Ausbeute bei „Clauberg“ auch hier höher. Die Autoren kommen wie auch Pesch und Dahr zu dem Schluß, daß ein Maximum an Ausbeute nur bei gleichzeitiger Verwendung von beiden Nährböden möglich ist, daß aber bei Massenuntersuchungen der „Clauberg III“ genügt.

Die gewisse Umständlichkeit, die der Herstellung der Claubergplatten eigen ist, drängte zu weiteren Versuchen, den Elektiv-Nährboden für Diphtheriebazillen, der grundsätzlich nach denselben Prinzipien aufgebaut sein mußte, in der Herstellung zu vereinfachen. Hierin liegt die Bedeutung des Tietzschen Nährbodens, der allerdings in der bisher angegebenen Form auf die

Indikatormöglichkeit durch Vergärung des Traubenzuckers durch Diphtheriebazillen verzichtet; sonst aber, was Cystin und Tellurzusatz angeht, etwa gleiche Bedingungen erfüllt. Einfacher ist er im wesentlichen durch den Verzicht auf Blutglycerolat und Blutwasser. Es wird beim Tietz-Nährboden lediglich Blut in gewisser Menge zugesetzt. Daneben soll der Nährboden auch noch zur praktischen Typendiagnose dienen, und zwar sollen drei Wuchsformen

1. Typus gravis = Wuchsform I
2. Typus mitis = Wuchsform II
3. Typus intermedius = Wuchsform III

leicht auf der Platte zu unterscheiden sein. Tietz legt diesen Wuchsformen große Bedeutung bei, da ihre Erkennung nicht nur diagnostisch, sondern auch prognostisch wichtig sei, denn es soll ein enger Zusammenhang zwischen Typus und klinischem Bild bestehen.

Aus bisher von T i e t z angestellten Beobachtungen zwischen seinem Nährboden und dem „Löffler" geht hervor, daß auch der Tietzsche Nährboden sich in ähnlicher Form wie „Clauberg III" dem Löfflernährboden überlegen zeigt.

Bei einem Vergleich zwischen „Löffler" und „Tietz" an 1000 Abstrichen zeigte sich der letztere erheblich überlegen, indem er 139, „Löffler" nur 54 positive Fälle nachwies.

Bei diesem Stand der Dinge ist es daher unvermeidlich, von verschiedensten Seiten weitere Vergleichsversuche anzustellen. Die in folgenden angeführten Untersuchungen dienen demgemäß diesem Zweck.

Zur Untersuchung gelangten der zuletzt von Clauberg herausgegebene Nährboden, kurz „Clauberg III" genannt, und der Tietzsche Nährboden.

Nach den Angaben Claubergs in dem Sonderdruck aus „Die technische Assistentin" Nr. 2 Februar 1935 wurde der Nährboden nach folgender Vorschrift hergestellt.

Erforderlich ist:

1. ein Blutwassergemisch aus 1 Teil Blut und 2 Teilen aqua destillata.
2. Blutglycerin: 2 Teile steriles Hammel- oder Rinderblut und 1 Teil einfach destilliertes steriles Glycerin werden gemischt und in gut verschlossenen Flaschen kühl aufbewahrt. Da das Blutglycerin-Gemisch durch Lagern besser wird, wurde dasselbe erst nach 6 Wochen Lagerung in Gebrauch genommen.
3. 1proz. wässerige Lösung von Kaliumtellurit.

4. 2proz. wässerige Stammlösung von Wasserblau (6 B extra P).
5. 2proz. wässerige Stammlösung von Metachromgelb (2 R D).
6. Nähragar von pH 7,2.
7. Dextrose, Cystin, Natriumazetat.

Aus 1.), 2.) und 3.) wurde das gebrauchsfertige sog. Grundgemisch hergestellt; auf 100 Teile Blutwasser kamen 5 Teile Blutglycerin und 8 Teile einer 1proz. Telluritlösung.

Auf 100 ccm Nährmasse berechnet, wurden

a) zu 1,5 g Dextrose, 0,0125 g Cystin, 0,15 g Natriumacetat, 6 ccm Wasserblaulösung und 2 ccm Metachromgelblösung gefügt. Das ganze wurde darauf im Wasserbad auf 48°—50° erwärmt.

b) Gleichzeitig wurden 50 ccm des Grundgemisches ebenfalls im Wasserbad von derselben Temperatur erwärmt.

c) In einem dritten Kölbchen wurden 42 ccm verflüssigten Agars auf die gleiche Wasserbadtemperatur gebracht, und dann wurden b) und c) zu a) gefügt und das Ganze zur guten Durchmischung geschüttelt.

Die Platten wurden in etwa 5 mm Dicke gegossen. Es wurde darauf geachtet, daß die Platten nach dem Erstarren durchsichtig und von burgunderroter Farbe waren, da die Platten bei Braunverfärbung nicht brauchbar sein sollen.

Nach Claubergs Angabe wachsen auf dieser Platte im wesentlichen nur Diphtheriebazillen, daneben auch Pseudodiphtheriebazillen, deren Wachstum aber oft gehemmt ist.

Die Diphtheriebazillen bilden auf diesem Nährboden Kolonien, deren Durchmesser teilweise über 3 mm beträgt. Die charakteristischen Kolonien sind rund, flach, bei auffallendem Licht opak und bei isolierter Lagerung graugelblich gefärbt. Dagegen wirkt ein dichter Rasen von Diphtheriekolonien grau und matt. Je nach der Anspruchslosigkeit der Diphtherie-Stämme zeigen diese schon nach 6—12 Stunden einen intensiv blauen Hof. Pseudodiphtheriekolonien haben eine kugelig gewölbte Form und sehen schmutzig schwärzlich bis bräunlich aus, und infolge Alkalibildung können sie von einem aufgehellten gelblichen Hof umgeben sein. Außer Diphtherie wächst noch eine seltene Mundkokkenart mit einer blauen Zone, doch ist diese mehr schmutzig grau, und zudem ist die bröcklige Kolonie schwärzlich bräunlich. Auch Sproßpilze wachsen mit Umschlag in Blau, doch kann man ihre weißgraue perlmutterartige Kolonie, die halbkugelförmig ist, leicht von Diphtherie abgrenzen.

Um diese Angaben zu prüfen, wurde so vorgegangen, daß zuerst verschiedene Rachenabstriche auf Blutplatten ausgestrichen

wurden, und von den gewachsenen Bakterienarten wie Staphylo- und Streptokokken, Pneumokokken, Sarzinen, Hefe, Diphtherie und Pseudodiphtherie Reinkulturen gezüchtet wurden. Diese wurden dann auf die zu untersuchenden Nährböden überimpft. Diphtherie wuchs gut und in der von Clauberg angegebenen Weise. Es gab allerdings vereinzelte Stämme, die überhaupt kein Wachstum zeigten. Die nach Neißer gefärbten Präparate waren so atypisch, daß daraufhin keine Diagnose gestellt werden konnte. Clauberg führt diese starke Veränderung auf das Kohlehydrat des Nährbodens und die Spaltprodukte zurück, die gerade die makroskopische Abgrenzung der echten von der Pseudodiphtherie ermöglichen sollen, die aber auch gleichzeitig die Polkörnerfärbung stören.

Pneumo- und verschiedene Strepto- und Staphylokokken wuchsen nicht, gut dagegen wuchsen Sarcinen in schwärzlichen Kolonien und einem schmutzig blauen Hof. Hefe wuchs in weißlichen Kolonien, die in dickeren Schichten bräunlich aussahen.

Der Tietzsche Nährboden wurde nach der Vorschrift aus der „Deutschen med. Wochenschrift" Jahrgang 1935 Nr. 21 S. 834 hergestellt; und zwar folgendermaßen:

Es wird zu 260 ccm gepuffertem Agar (2½—3%ig, p H 7,6) vor der Sterilisation 1 ccm S H-Stammlösung zugegeben. Diese Stammlösung, die wochenlang haltbar ist, besteht aus einer Lösung von 0,5 gr Cystin in sodahaltigem sterilen Wasser (0,5 gr Soda in 5 ccm aqua destillata). Nach Lösung des Cystins wird mit sterilem Wasser auf 50 ccm aufgefüllt.

Nach Abkühlung des Agars auf etwa 50° C wird eine Mischung von 30 ccm sterilem defibrinierten Hammelblut und 12 ccm einer 1%igen aufgekochten Lösung von Kalium tellurosum puriss. zugesetzt.

Das aus diesen Mengen hergestellte Nährsubstrat reicht für etwa 45—50 Platten, die einen rötlich-bräunlichen Ton haben, und je nach dem Fortschritt der Hämolyse des Blutes durchsichtig werden. Im Gegensatz zu „Clauberg III" beeinträchtigt der Farbton die Diagnose nicht. Die 3 Typen der Diphtherie sollen nach 20stündiger Bebrütung im Plattenkulturmikroskop zu erkennen und gegen Pseudodiphtherie und andere Keime abzugrenzen sein. Es wird angegeben, daß Typus gravis und Typus mitis in ziemlich großen Kolonien wachsen und besonders in den Einzelkolonien die Tellurverbindung reduzieren. Dadurch erhalten sie eine charakteristische graue Farbe, anfangs sind nur die zentralen Partien gefärbt. Pseudodiphtherie-Kolonien reduzieren in 20 Stunden fast nie Tellur und falls doch, dann nur dort, wo sie nicht gedrängt liegen, im Gegensatz zu Diphtherie-Kolonien der Wuchsform I und II.

Die Wuchsform I der Diphtheriebazillen, soll 1. an der typischen Färbung, dann aber noch an der unverkennbaren Lagerung der Kolonien im Verband in Form von Einback- oder Reihsemmel zu erkennen sein. Als Einzelkolonie soll eine sog. Gänseblümchenform mit trockner, teils rauher Oberfläche zu beobachten sein.

Für Kolonien von Wuchsform II wird eine glatte Oberfläche, scharfe Umgrenzung als Einzelkolonien, dagegen Zusammenfluß im Verband angegeben.

Wuchsform III soll erheblich kleiner und an den typisch kleinen grauen Kolonien mit schwarzem Zentralpunkt kenntlich sein. Die 40stündige Kultur zeigt meist blauschwarze Kolonien mit hellgrauem Rand und zentraler Nabel- oder Knopfbildung. Auch hier soll die Begleitflora stark zurückgehalten werden.

Ebenso wie auf „Clauberg III", wurden auch auf diesen Nährboden die aus Rachenabstrichen gezüchteten Reinkulturen gebracht. Allgemein war das Wachstum der Diphtheriebazillen gut, auch waren verschiedene Wuchsformen zu erkennen. Diphtherie wuchs in ziemlich großen Kolonien, deren Mitte in der Durchsicht dunkel war, und die sich zum Rande hin aufhellten. In der Aufsicht waren die Kolonien grauschwarz, flach mit erhobenem Zentralpunkt, die Oberfläche war matt und der Rand unregelmäßig. Das mikroskopische Bild zeigte einzelne typische schlanke Stäbchen, die meisten dagegen waren plump und hatten oft vermehrte Polkörner. Andere Diphtherie-Stämme wuchsen auch in mittelgroßen grauen Kolonien aus, die eine halbkugelige Form hatten; die Oberfläche war spiegelnd. Bei dieser Wuchsform war die typische Form, Lagerung und Färbbarkeit viel besser erhalten und gegenüber „Löffler" kaum verändert.

Von der übrigen Mundflora wuchs nach 18 bis 24 Stunden Pseudodiphtherie in hellen durchsichtigen kleinen Kolonien. Die mit Pneumokokken beimpften Platten blieben steril, ebenso einzelne mit gramfesten Kokken überimpfte Platten. Dafür zeigten aber andere Kokken ein gutes Wachstum. Diese Kolonien waren zum Teil mittelgroß, dunkel mit hellem Rand, aber auch klein und hell. Diese letzteren wuchsen nicht so gut wie die ersteren. Außerdem zeigten noch kleine plumpe Stäbchen, grampositiv und wallförmig gelagert, ein gutes Wachstum. Diese Kolonien waren auch in der Mitte dunkel und zum Rande hin heller. Makroskopisch, ohne Hilfe des Plattenmikroskopes, war die Diagnose Diphtherie oder nicht, oft nur sehr schwer zu stellen, oft sogar gar nicht möglich. Daher mußten bei der Paralleluntersuchung sehr häufig mikroskopische Präparate von „Tietz" gemacht werden, und da diese oft auch nicht einwandfrei zu diagnostizieren waren, mußten sie erst auf „Löffler" zurückgeimpft werden, wo-

durch die Diagnose um einen Tag verzögert wurde. Bei täglicher Untersuchung dieses Nährbodens wächst aber auch die Sicherheit in der makroskopischen Diagnose. Immerhin bleibt die Zahl der zweifelhaften Fälle doch noch höher als bei Clauberg III.

In der Beimpfung der beiden Platten „Tietz" und „Clauberg III" wurde bei der Untersuchung so verfahren, daß 4 Abstriche auf eine Platte kamen. Es wurde darauf geachtet, daß die Ausstrichslinien sich nicht berührten. Zum Ausstrich wurden die eingesandten Tupfer verwendet, die so gedreht wurden, daß ihre ganze Oberfläche in Berührung mit der Platte kam. Die Ausstrichsfolge der Platten wurde jede Woche gewechselt. Die so beimpften Platten blieben bis zum nächsten Tag im Brutschrank und wurden dann diagnostiziert. Da in der Regel bisher im Institut immer schon nach 24 Stunden die Diagnose endgültig gestellt wird, wurde dies auch bei beiden Platten beibehalten, zumal ja auch beide Autoren diese Zeit für genügend ansehen. Zur Untersuchung gelangten in der 1. Serie vergleichsweise auf „Löffler—Tietz—Clauberg III" 860 Abstriche.

Insgesamt waren 204 Fälle positiv, davon erfaßte

„Löffler" 176,
„Clauberg" 175,
„Tietz" 198.

Stellt man die Einzelnährböden mit ihren Ergebnissen einander gegenüber, so kommt man zu folgendem Resultat:

Lö+Cl+161	Lö+T+173	Cl+T+172
Lö+Cl— 15	Lö+T— 3	Cl+T— 3
Lö—Cl+ 14	Lö—T+ 25	Cl—T+ 26

Lö+T+Cl+160
Lö+T—Cl— 0
Lö—T+Cl— 12
Lö—T—Cl+ 1

Bei der Beurteilung der Platten wurde so vorgegangen, daß von „Löffler" natürlich jedesmal ein Präparat angefertigt wurde. Von „Tietz" und „Clauberg III" wurden die nach 24 Stunden steril gebliebenen Platten sofort als negativ ausgeschaltet. Zeigten Kolonien auf „Clauberg" einen blauen Hof, so wurden sie erst auf Form, Oberfläche und Färbung untersucht. Stimmte dieses mit Claubergs Beschreibung überein, so wurde der Abstrich als positiv bewertet, auch wenn nur vereinzelte Kolonien gewachsen waren. Im Anfang wurden solche Fälle zur größeren Sicherheit erst auf „Löffler" zurückgeimpft, ebenso in Zweifelsfällen. Bemerkenswert ist hierbei weiter noch, daß in verschiedenen Fällen nach Zurückimpfung einwandfrei Diphtherie festgestellt werden konnte, ohne

daß diese Stämme die Spur einer blauen Hofbildung auf „Clauberg“ gezeigt hätten. Wegen ihres überaus guten Wachstums und ihrer Koloniebildung waren sie verdächtig erschienen, zumal die Parallelplatten häufig für positiv befunden wurden. Daraus ersieht man, daß auch nicht blau verfärbte Platten zu beachten sind.

Bei der Tietzplatte gestaltete sich die Diagnose etwas schwieriger. Grundsätzlich muß gesagt werden, daß nicht das Plattenkulturmikroskop gebraucht wurde, da es bei der Untersuchung nicht auf Wuchsformen ankam, sondern nur auf die Verwendbarkeit der Platte zur makroskopischen Diphtheriediagnostik und auf die Erfassung der positiven Fälle. Wie schon gesagt, ist es für den weniger Geübten sehr schwer, ohne Präparat auszukommen. Um sicher zu gehen, wurden von allen diphtherieähnlichen Kolonien Präparate angefertigt. Dabei zeigte sich, daß die Kolonien von Diphtherie leicht abnehmbar und gut verreiblich sind. Ganz ähnlich aussehende Kokkenkolonien dagegen waren im Ganzen verschieblich, leicht verbacken mit der Unterlage und schlecht verreiblich. Auch Präparate, die von dieser Platte gemacht wurden, waren nicht immer mit Sicherheit zu diagnostizieren. Häufig waren die Diphtheriestäbchen kurz, plump und mit starker Polkörnerfärbung, daß sie auf den ersten Blick wie aneinander gelagerte Kokken aussahen. Erst nach Rückimpfung konnte dann endgültig entschieden werden, ob Diphtherie vorlag oder nicht.

Die hohe Ausbeute der Tietz-Platte ist zum Teil darauf zurückzuführen, daß sie besser noch als der „Clauberg“ selbst ganz vereinzelte Diphtheriebazillen zur Koloniebildung bringt. Oft waren nur 2 bis 3 Kolonien, ja selbst nur eine Kolonie gewachsen. Selbst wenn auch auf „Löffler“ diese vereinzelten Kolonien gewachsen wären, ist der Nachweis nicht sicher, einesteils weil die Begleitflora sie leicht überwuchert, andererseits aber auch, weil sie beim Ausstrich nicht immer erfaßt werden.

Aus der Tabelle ist weiter zu ersehen, daß keiner der drei Nährböden die 204 positiven Fälle erfaßt hat. Aber mit 97,05% steht „Tietz“ an erster Stelle. „Löffler“ und „Clauberg“ sind mit 86,27 % und 85,78 % fast gleich.

In 161 Fällen waren „Löffler“ und „Clauberg III“ gemeinsam positiv, von „Löffler“ wurden 15 Fälle erfaßt, die bei „Clauberg“ negativ waren und umgekehrt brachte Clauberg 14 Fälle heraus, die auf dem anderen nicht nachzuweisen waren.

Dagegen war der „Tietz“ dem „Löffler“ nur in 3 Fällen unterlegen, brachte dafür aber auch in 25 Fällen positive Ergebnisse, die auf dem „Löffler“ negativ waren.

Vergleicht man beide Nährböden mit dem „Löffler", so sieht man, daß „Clauberg III" dem „Löffler" in 15 Fällen, „Tietz" aber nur in 3 Fällen unterlegen war. Man kann daraus erkennen, daß der „Tietz" in dieser Serie in der Erfassung der Diphtheriebazillen dem „Clauberg" überlegen war. Es wurde ja schon vorher erwähnt, daß es Diphtherie-Stämme gibt, die auf „Clauberg III" einfach nicht wachsen; das konnte dadurch bewiesen werden, daß die fraglichen Diphtherie-Stämme von „Tietz" und „Löffler" auf „Clauberg III" überimpft kein Wachstum zeigten. W a l d h e c k e r wies auch schon darauf hin.

Bei einer anderen Serie, wo nur „Tietz" mit „Löffler" verglichen wurde, konnte nicht dieselbe Ueberlegenheit des Tietzschen Nährbodens festgestellt werden.

Von 115 Abstrichen waren auf „Löffler" 34, auf „Tietz" 35 positiv. Nur in 30 Fällen waren beide übereinstimmend positiv, so daß „Tietz" hier also von den im ganzen 39 positiven Fällen nur 89,74% herausbrachte.

Auch bei einem Vergleich „Löffler-Clauberg III" stimmen die Resultate nicht ganz mit denen der 1. Serie überein, denn von 700 Abstrichen erfaßte „Löffler" nur 116 = 87,87%, „Clauberg III" dagegen 128 positive Fälle = 96,96%. Im Gegensatz zur 1. Serie zeigt sich hier also der „Clauberg III" dem „Löffler" überlegen. In 112 Fällen waren beide übereinstimmend positiv. Danach waren auf „Löffler" 4, auf „Clauberg III" aber 16 positive Fälle nachzuweisen, die auf dem anderen Nährboden nicht festzustellen waren.

Diese verschiedenen Ergebnisse sind so zu erkläen, daß erstens das eingesandte Untersuchungsmaterial nicht immer gleich stark positiv ist, d. h. daß häufig die positiven Fälle nur vereinzelt positiv sind, das andere Mal dagegen stark positiv. Diese stark positiven Abstriche werden im Durchschnitt aber genau so gut von „Löffler" wie von „Tietz" erfaßt, so daß hier die Ueberlegenheit des letzteren nicht in dem Maße hervortritt. Zweitens spielen beim „Clauberg III" gewisse Schwankungen des Nährbodens mit, die durch seine umständliche Herstellung bedingt sind.

In einer 4. Serie wurde „Clauberg III" mit „Tietz" verglichen, und zwar an Material, das vom Staatlichen Untersuchungsamt Münster zur Verfügung gestellt worden war.

Im Gegensatz zu den bisherigen Untersuchungen wurden alle nach 24 Stunden negativen Platten einen weiteren Tag im Brutschrank gelassen, wobei die positive Ausbeute um ein Beträchtliches stieg. Auch hier wurde die Ausstrichsfolge regelmäßig gewechselt.

Von 700 Abstrichen waren 139 positiv; davon erfaßte „Tietz“ 130 = 93,56%; „Clauberg III“ 117 = 84,17%. In 108 Fällen waren beide übereinstimmend positiv. Also hat „Tietz“ neunmal, „Clauberg III“ aber 22mal versagt.

Aus diesen Untersuchungen ist zu ersehen, daß sowohl „Clauberg III“ wie „Tietz“, was die Erfassung der positiven Fälle angeht, dem „Löffler“ mindestens gleichzusetzen sind. Beide haben ihre Vorteile, der „Clauberg“ in der besseren makroskopischen Erfassung der positiven Fälle, der „Tietz“ in der höheren positiven Ausbeute, in der einfacheren Herstellung und in der längeren Haltbarkeit.

Es liegt nun nahe, eine Platte herzustellen, die die Vorzüge beider Platten vereinigt. Dieses könnte man etwa in der Weise erreichen, daß man bei der Tietzplatte zur größeren makroskopischen Sicherheit, wie auch bei „Clauberg III“, die Säurebildung aus Traubenzucker verwendet, indem man Traubenzucker und als Indikator Wasserblaulösung, ferner noch Metachromgelb zusetzt. Die Platte würde sich dann wie folgt zusammensetzen:

260 ccm Agar,
1 ccm SH-Stammlösung,
18 ccm einer 2%igen Wasserblaulösung,
6 ccm einer 2%igen Metachromgelblösung,
4,5 g Traubenzucker,
30 ccm Blut,
12 ccm einer 1%igen Telluritlösung.

Eine derartige Platte ist schon in verschiedenen Untersuchungsämtern in Gebrauch. Eine Nachprüfung ergab keinerlei Nachteile gegenüber „Tietz“ und „Clauberg“, so daß man sie als vollwertige Platte zur makroskopischen Diphtheriediagnose bezeichnen kann.

Zusammenfassung.

1. Nach einem Ueberblick über die Entwicklung der Diphtherienährböden werden in der Arbeit die beiden neuesten Elektivnährböden von Clauberg und Tietz in ihrer Brauchbarkeit mit dem Löfflernährboden verglichen.
2. Im Ganzen erfolgte die Prüfung in vier verschiedenen Serien:
   a) Vergleich zwischen „Clauberg-Tietz“ und „Löffler“,
   b) „ „ „Tietz“ und „Löffler“,
   c) „ „ „Clauberg“ und „Löffler“,
   d) „ „ „Clauberg“ und „Tietz“.
3. Der Vergleich 2a ergab eine Ueberlegenheit des Tietznährbodens über „Löffler“ und „Clauberg III“. Die Letzteren waren in der Erfassung der positiven Fälle fast gleich.
   Im Gegensatz dazu war bei 2b der „Tietz“ dem „Löffler“ kaum überlegen.
   Dagegen war bei der Serie 2c der „Clauberg“ dem „Löffler“ überlegen. Diese verschiedenen Ergebnisse werden mit dem nicht immer gleich stark positiven Material in Zusammenhang gebracht.
   Bei dem Vergleich zwischen „Clauberg“ und „Tietz“ war die positive Ausbeute bei Tietz höher.
4. Da der „Clauberg III“ in der makroskopischen Erfassung sicherer ist, der „Tietz“ aber neben einfacherer Herstellung und längerer Haltbarkeit auch mehr positive Fälle herausbringt, wurde eine Kombination von „Tietz“ und „Clauberg III“ angegeben, in der Form, daß zu dem Tietzschen Nährboden Dextrose und als Indikator Wasserblaulösung, ferner Metachromgelblösung zugegeben werden sollen, um die Vorteile beider Nährböden zu vereinigen.

Schrifttumverzeichnis.

Hanau, Zentralbl. f. Bakt. Orig.-Band 72, S. 237 (1914).

H. Braun u. F. Mündel, Zentralbl. f. Bakt. Orig.-Band 103, S. 182 (1927).

— Zentralbl. f. Bakt. Orig.-Band 112, S. 374.

K. W. Clauberg, Zentralbl. f. Bakt. Orig.-Band 114, S. 539 (1929).

— Zentralbl. f. Bakt. Orig.-Band 120, S. 324 (1931).

— Zentralbl. f. Bakt. Orig.-Band 132, S. 470 (1934).

Friedr. Lorentz, Zentralbl. f. Bakt. Orig.-Band 134, S. 131 (1935).

J. Hasenbach, Zentralbl. f. Bakt. Orig.-Band 134, S. 137.

K. W. Clauberg, Zentralbl. f. Bakt. Orig.-Band 134, S. 271.

Pesch u. Dahr, Zentralbl. f. Bakt. Orig.-Band 135, S. 50 (1935).

Wohlfeil u. Berg, Zentralbl. f. Bakt. Orig.-Band 135, S. 94.

Friedr. Lorentz, Zentralbl. f. Bakt. Orig.-Band 135, S. 522.

K. W. Clauberg, Zentralbl. Bakter. I. Ref. Band 117, S. 377 (1935).

Waldhecker, Zeitschr. f. Hyg. Band 116, S. 337 (1934).

M. Gundel u. Liebetruth, Zeitschr. f. Hyg. Band 117 (1935).

H. Conradi, M. m. W. Jahrgang 1913, Nr. 20, S. 1073.

v. Drigalski u. Bierast, D. m. W. Jahrgang 1913, Nr. 26, S. 1237.

Carl J. Dietz, D. m. W. Jahrgang 1935, Nr. 21, S. 834.

Neisser u. Gins, Kolle-Wassermann, Handbuch d. path. Mikroorganismen. 2. Aufl. Band 5, S. 931. Verlag Gust. Fischer, Jena.

H. A. Gins, Kolle-Uhlenhuth, Handbuch d. path. Mikroorganismen. 3. Aufl. Band $V/_1$, S. 451.

E. Gildemeister, Kolle-Uhlenhuth, Bd. IX, S. 999. Verlag Gust. Fischer, Jena.

Lebenslauf.

Ich, Hildegard Wienken, wurde am 18. Oktober 1911 als Tochter des Abteilungsleiters Josef Wienken in Gelsenkirchen geboren. In Essen besuchte ich das Katholische Oberlyzeum, an dem ich Ostern 1932 die Reifeprüfung ablegte. Danach bezog ich für 3 Semester die Universität in Münster i. W., dort bestand ich im Herbst 1933 die zahnärztliche Vorprüfung. Die beiden nächsten Semester studierte ich in Freiburg i. Brsg. und kehrte dann wieder nach Münster zurück, wo ich im Herbst 1935 das Staatsexamen ablegte.